

## 参考文献

- [1] 卯晓岚. 中国毒菌物种多样性及其毒素 [J]. 菌物学报, 2006, 25(3): 345-363.
- [2] 图力古尔, 包海英, 李玉. 中国毒蘑菇名录 [J]. 菌物学报, 2014, 33(3): 517-548.
- [3] CAI Q, TULLOSS R E, TANG L P, et al. Multi-locus phylogeny of lethal amanitas: implications for species diversity and historical biogeography [J]. BMC Evol Biol, 2014, 14(1): 143.
- [4] CAI Q, CUI Y Y, YANG Z L. Lethal *Amanita* species in China [J]. Mycologia, 2016, 108(5): 993-1009.
- [5] LI H J, XIE J W, ZHANG S, et al. *Amanita subpallidorosea*, a new lethal fungus from China [J]. Mycol Prog, 2015, 14(6): 43.
- [6] 陈作红, 杨祝红, 图力古尔, 等. 毒蘑菇识别与中毒防治 [M]. 北京: 科学出版社, 2016: 1-308.
- [7] CHEN Z H, ZHANG P, ZHANG Z G. Investigation and analysis of 102 mushroom poisoning cases in Southern China from 1994 to 2012 [J]. Fung Diver, 2014, 64(1): 123-131.
- [8] 周静, 袁媛, 郎楠, 等. 中国大陆地区蘑菇中毒事件及危害分析 [J]. 中华急诊医学杂志, 2016, 25(6): 724-728.
- [9] 王娅芳, 周亚娟, 朱姝, 等. 2004—2013 年贵州省毒蘑菇中毒事件流行病学特征分析 [J]. 中国食品卫生杂志, 2015, 27(1): 49-53.
- [10] 周亚娟, 周长林, 俞红, 等. 一起条盖盔孢伞中毒事件调查 [J]. 应用预防医学, 2014, 20(6): 337-339.
- [11] 杨祝良. 中国真菌志 (第二十七卷 鹅膏科) [M]. 北京: 科学出版社, 2005: 1-258.
- [12] 杨祝良. 中国鹅膏科真菌图志 [M]. 北京: 科学出版社, 2015: 1-213.
- [13] 张雪岳. 贵州食用菌和毒菌图志 [M]. 贵阳: 贵州科技出版社, 1991: 1-261.
- [14] 廖琼. 鹅膏肽类毒素的毒理及灵芝对其所致肝损伤的保护作用研究 [D]. 长沙: 湖南师范大学, 2009: 31-32.
- [15] WEI J H, WU J F, CHEN J, et al. Determination of cyclopeptide toxins in *Amanita subpallidorosea* and *Amanita virosa* by high-performance liquid chromatography coupled with high-resolution mass spectrometry [J]. Toxicon, 2017, 133(4): 26-32.

## 调查研究

## 江西省铅山县一起蘑菇中毒事件的调查与鉴定

周厚德, 刘洋, 游兴勇, 刘道峰, 刘成伟

(江西省疾病预防控制中心 江西省食源性疾病预防溯源重点实验室, 江西 南昌 330029)

**摘要:**目的 调查江西省铅山县一起蘑菇中毒事件并对引起中毒的毒蘑菇进行鉴定。方法 收集事件病例资料, 开展流行病学调查, 对蘑菇样品进行外观形态学、分子生物学鉴定。结果 流行病学调查结果显示患者均食用了自行采摘的蘑菇, 潜伏期约为 4 h, 出现呕吐、胃肠道不适等中毒症状, 给予补液、激素、保肝等护胃解毒支持疗法进行治疗, 3 d 后全部痊愈出院。分子生物学方法鉴定为疑似大青褶伞。结论 此次事件因误食可疑大青褶伞野生蘑菇而引起急性中毒, 结合流行病学、分子生物学等方法可以较好地鉴定毒蘑菇种类。

**关键词:**蘑菇; 大青褶伞; 食物中毒事件; 调查; 分子鉴定; 江西

中图分类号: R155 文献标志码: A 文章编号: 1004-8456(2018)05-0501-04

DOI: 10.13590/j.cjfh.2018.05.011

## Investigation and identification of a mushroom poisoning case

ZHOU Houde, LIU Yang, YOU Xingyong, LIU Daofeng, LIU Chengwei

(Jiangxi Provincial Key Laboratory of Foodborne Disease Diagnosis, Jiangxi Provincial Center for Disease Control and Prevention, Jiangxi Nanchang 330029, China)

**Abstract: Objective** To investigate a case caused by mushroom poisoning and identify the mushroom in Qianshan, Jiangxi Province. **Methods** The case was studied with the epidemiological investigation, clinical treatment data, and the suspicious mushroom samples were identified by morphology and molecular biology. **Results** The epidemiological investigation showed that all the patients ate mushrooms picked by themselves, the incubation period was about 4 hours, and the typical symptoms included gastroenteritis, vomiting and so on. After treatment with fluid support, corticosteroid,

收稿日期: 2018-06-05

作者简介: 周厚德 女 主管技师 研究方向为食品安全风险监测 E-mail: epuproein@163.com

通信作者: 刘成伟 男 主任技师 研究方向为食品安全风险监测 E-mail: liuchengwei718@sina.com

liver protection, all patients recovered after 3 days. The molecular biological evidence showed that the samples were probably *Chlorophyllum molybdites*. **Conclusion** The case was caused by *Chlorophyllum molybdites* poisonous mushroom. The poisonous mushroom species could be identified combined with epidemiology, morphology and molecular biology method.

**Key words:** Mushrooms; *Chlorophyllum molybdites*; molecular identification; food poisoning cases; investigation; Jiangxi

毒蘑菇又称毒蕈、毒菌等,是指大型真菌的子实体被食用后对人类或动物产生中毒反应的种类<sup>[1]</sup>,目前我国有毒蘑菇 100 多种。毒蘑菇与可食用蘑菇往往容易混淆,近些年,因误食毒蘑菇而死亡的中毒事件仍然十分常见,江西省是我国毒蘑菇中毒事件的主要发生地之一,1994—2002 年共发生 3 起毒蘑菇中毒事件,中毒 200 余人,死亡 14 人<sup>[2]</sup>。青褶伞类是一种大型真菌,属真菌界、褶伞属,该菌广泛分布于世界各地的温带和亚热带地区,在我国主要分布于广东、海南、湖南、江苏等省份,于夏秋季生长在草坪、阔叶林等地上。青褶伞可引起胃肠炎型中毒,在北美被认为是最常见的被人误食的毒蘑菇种类之一<sup>[3]</sup>。2017 年 6 月江西省铅山县发生一起 3 人食用可疑野生大青褶伞毒蘑菇的中毒事件,无人死亡,采用形态学与分子生物学方法对毒蘑菇进行了鉴定。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要仪器与试剂

PCR 仪(德国 Eppendorf),凝胶成像系统(美国 Bio-Rad)。

Dneasy plant Mini Kit(美国 Qiagen), $2 \times$  Taq PCR Master Mix、琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒、氨苄青霉素均购自天根生化科技(北京)有限公司,Gel-Red(美国 Biotium),引物由上海英潍捷基贸易有限公司合成。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 流行病学调查

对此次食物中毒事件开展现场调查,包括现场采样,向中毒患者及家属了解可疑餐次、食品及发病情况,分析毒蘑菇形态,向临床医生了解中毒患者的主要临床表现、病程、诊断和治疗情况。

#### 1.2.2 形态学鉴定

通过查阅《毒蘑菇识别与中毒防治》等书籍,根据菌菇形态、颜色、菌盖、菌褶、菌环、菌柄等情况进行判定。

#### 1.2.3 DNA 标识码鉴定

将 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冻存的毒蘑菇取出,粉碎机粉碎,使用 DNA 提取试剂盒进行 DNA 提取,按照试剂盒说明书操作。扩增片段为内转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS),引物为 ITS5 (GGAAGTAAAAGTCGTA-

ACAAGG) 和 ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC)<sup>[3]</sup>。PCR 反应体系( $50\text{ }\mu\text{l}$ ): $2 \times$  Taq PCR Master Mix  $25\text{ }\mu\text{l}$ , 正反向引物  $5\text{ }\mu\text{l}$ ,模板 DNA  $1\text{ }\mu\text{l}$ ,水  $19\text{ }\mu\text{l}$ 。反应条件: $98\text{ }^{\circ}\text{C}$  预变性  $5\text{ min}$ ;  $98\text{ }^{\circ}\text{C}$  变性  $5\text{ s}$ ,  $58\text{ }^{\circ}\text{C}$  退火  $5\text{ s}$ ,  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  延伸  $5\text{ s}$ , 40 个循环;  $72\text{ }^{\circ}\text{C}$  延伸  $10\text{ min}$ ,  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  保温。 $5\text{ }\mu\text{l}$  PCR 产物电泳后回收,回收过程参考相应试剂盒说明书,将回收产物  $16\text{ }^{\circ}\text{C}$  过夜与 pUC19 载体进行连接,连接产物转染感受态细胞后通过蓝白斑筛选,白色克隆为阳性克隆。将单克隆过夜培养后送上海生工生物工程股份有限公司进行测序。

#### 1.2.4 DNA 序列分析

将测序返回的结果用美国生物技术信息中心(NCBI)的 BLAST 工具进行序列比对,获得 ITS 匹配度高的分类结果。

## 2 结果

### 2.1 流行病学调查

#### 2.1.1 基本情况

2017 年 6 月 20 日晚 7 时左右,铅山县河口镇玉石村村主任及其妻子、父亲三人在家共用晚餐,晚餐包括野生菌菇汤、土豆烧肉、炒青菜和米饭,其中土豆、猪肉、青菜均为其妻子当天上午在菜市场购买,野生菌菇为其父亲当天下午在村子旁边的山上采摘获得。进食后晚上 11 时许,三人相继出现恶心、呕吐、腹痛、腹泻、解水样便,腹部疼痛呈阵发性绞痛,呕吐物为胃内容物,无咖啡样物,继而解水样便,便后腹部不适缓解,无畏寒、腹痛、胸闷、气促等症状。三名患者意识均较清晰,无头痛、头晕等精神方面改变的症状。当天晚上其父亲首先发病,村主任立即拨打了县医院急救电话,之后村主任及其妻子均出现相同症状,故三人一起乘坐县人民医院车辆至县医院就诊。

#### 2.1.2 毒蘑菇来源及其外观形态学鉴定

事件发生后,调查人员前往铅山县人民医院开展了详细的流行病学调查工作,详细调查了可能的暴露情况和接触经过,并采集了剩下尚未烹调的蘑菇样品送省疾病预防控制中心进行检测和形态学鉴定。所获得菌菇菌盖直径为  $5\sim 20\text{ cm}$ ,白色,呈半球形;中部稍突起,鳞片大而厚,呈褐紫色;菌肉白色,松软;菌褶离生,宽且不等长,褶缘有粉粒;菌

柄长 15 cm,圆柱形,污白色,纤维质;菌环以上光滑,基部膨大,空心;菌柄菌肉伤后变褐色;菌环上位,膜质,可移动,疑似大青褶伞形态<sup>[4]</sup>。玉石村位于铅山县西南方向,共有 2 060 人,以水稻种植为主,村子四面环山,村民有采食野生蘑菇的习惯,调查人员对村子进行调查并未发现类似病例发生。调查人员逐步锁定可疑食品,结合临床特征分析,高度怀疑是食用野生不明蘑菇引发的突发中毒事件。

### 2.1.3 临床救治情况

医生根据患者自诉及恶心、呕吐、腹痛、腹泻等胃肠不适症状且潜伏期较短<sup>[4]</sup>等,对患者进行血、尿、便常规及肝功能、肾功能等生化检查,发现三名患者谷丙转氨酶和谷草转氨酶呈现一定提升,其中村主任父亲呈现一过性升高达到 80.5、96.5 U/L(采用干化学法的正常范围分别为 9~50、15~40 U/L),当即怀疑为野生毒蘑菇中毒,并于 21 日凌晨将三人转入铅山县人民医院中毒科进行治疗。铅山县人民医院中毒科采用补液、糖皮质激素、解痉等措施进行护胃解毒,同时输入庆大霉素和维生素 B<sub>6</sub> 等抗感染,经救治 22 日上午 10 时左右三人病情均基本好转,相关指标复查均达到正常水平,22 日上午村主任及其妻子病愈出院,23 日上午其父亲也病愈出院。

### 2.2 DNA 鉴定

将测序结果递交 NCBI 数据库进行比对,比对结果分类为大青褶伞,其 DNA 匹配度高达 99.74%,且匹配度超过 99.28% 的序列菌为大青褶伞,见表 1。

表 1 序列比对结果

Table 1 Sequence alignment results

| 序号 | 科   | 属    | 种      | 得分  | 相似度/%  |
|----|-----|------|--------|-----|--------|
| 1  | 伞菌科 | 青褶伞属 | 大青褶伞   | 751 | 99.74  |
| 2  | 伞菌科 | 青褶伞属 | 大青褶伞   | 690 | 99.28  |
| 3  | 伞菌科 | 青褶伞属 | 大青褶伞   | 668 | 100.00 |
| 4  | 伞菌科 | 青褶伞属 | 球盖青褶伞  | 598 | 95.47  |
| 5  | 伞菌科 | 青褶伞属 | 铅绿褶伞   | 588 | 95.18  |
| 6  | 伞菌科 | 青褶伞属 | 陀螺绿褶伞  | 579 | 92.74  |
| 7  | 伞菌科 | 青褶伞属 | 球盖青褶伞  | 560 | 97.69  |
| 8  | 伞菌科 | 白环蘑属 | 粉褶白环蘑  | 558 | 92.45  |
| 9  | 伞菌科 | 青褶伞属 | 霍滕斯青褶伞 | 508 | 86.03  |
| 10 | 伞菌科 | 白环蘑属 | 霍滕斯白环蘑 | 506 | 85.90  |

### 3 讨论

我国毒蘑菇资源十分丰富,目前已知的毒蘑菇有 430 余种,属 39 个科,已知的蘑菇毒素有 30 多种<sup>[5]</sup>。毒蘑菇以未知种类为主(约 80%),已知种类的毒蘑菇中以鹅膏和牛肝菌科为主。据统计,有毒动植物引起的食物中毒事件中,中毒人数为所有食物中毒报告的第二位,而导致死亡的人数最多<sup>[6]</sup>。

由于野生可食用蘑菇与有毒蘑菇表面特征上十分相似,野外杂生现象普遍,一般居民很难分辨,即使以前可食用的蘑菇也可能因生长环境的改变而具有毒性<sup>[7]</sup>。毒蘑菇中毒临床表现较为复杂,目前根据临床表现主要分为六类:胃肠炎型、神经精神型、溶血型、肝脏损害型、呼吸循环系统衰竭型和光过敏性皮炎型。目前我国尚无毒蘑菇毒素的实验室检验标准,毒蘑菇中毒事件的诊断主要依据现场流行病学调查结果、患者临床表现和蘑菇形态学特征进行鉴定<sup>[5]</sup>。

本次事件中,流行病学调查及临床特征显示,患者因误食有毒蘑菇引起不适,中毒后主要症状为恶心、呕吐、肠胃不适,潜伏期约 4 h,症状较轻,经过短时间治疗后三名患者均已痊愈,提示为胃肠炎型毒蘑菇引起的食物中毒。根据形态学与分子生物学方法鉴定,形态学上有毒蘑菇与大青褶伞形态特征相似,ITS 菌种鉴定方法比对结果也显示可能为大青褶伞,故高度怀疑误食的毒蘑菇为大青褶伞。大青褶伞多生长于野外,是最常见的毒蘑菇种类之一<sup>[2]</sup>,在我国东南沿海地区多有分布,其含有胃肠毒素和溶血毒素<sup>[8]</sup>,食用后会引发强烈的胃肠道反应且能造成多器官功能衰竭,其中毒症状的机理还需要更深入的研究<sup>[9]</sup>。毒蘑菇传统的鉴定方法主要依据外部形态、内部结构和显微特征等,因真菌物种形态特征有限而使得该方法十分滞后。分子生物学 DNA 标记方法核糖体大亚基(nLSU)、ITS 已广泛应用于有毒蘑菇的种类鉴定,随着国际生物条形码计划的启动,高等真菌 DNA 条形码研究已经取得一定进展,一致认为 ITS 是真菌分类鉴定的有效 DNA 条形码<sup>[10]</sup>。本次事件中,采用目前国际上热门的 DNA 条形码技术对毒蘑菇进行了分析。

本次事件引起的原因包括以下两点:一是患者一家对食用野生蘑菇中毒的认识不足,凭经验采食有毒蘑菇;二是各级政府部门宣传仍不到位,未能对中毒事件进行有效的管控。为避免此类事件再次发生,建议相关部门加强宣传教育,及时通过媒体等方式向群众宣传有毒野生蘑菇的知识,尤其是农村地区村民相关知识的普及,可通过乡村医生、发放宣传资料等方式进行预防,鼓励村民到市场上购买可食用蘑菇;提高广大医务人员对毒蘑菇中毒的救治知识,提升疾病预防控制工作人员检测蘑菇毒素的相关技能,做好解毒药物、标准品等方面的储备,做到早发现、早治疗。

### 参考文献

- [1] 刘斌,张振东,张婷婷.基于贝叶斯分类的毒蘑菇识别[J].软件导刊,2015,14(11):60-62.

- [2] 张志光,陈作红,张平等.我国南方地区1994—2002年毒蘑菇中毒情况及其研究[C].中国菌物学会第三届会员代表大会暨全国第六届菌物学学术讨论会论文集,2003:469-470.
- [3] 李海蛟,孙承业,乔莉,等.青褶伞中毒的物种鉴定、中毒特征及救治[J].中华急诊医学杂志,2016,25(6):739-743.
- [4] 陈作红,杨祝良,图力古尔,等.毒蘑菇识别与中毒防治[M].北京:科学出版社,2017:187-188.
- [5] 章轶哲,孙承业,李海蛟,等.一起蘑菇致急性中毒事件的现场调查与鉴定[J].中华急诊医学杂志,2016,25(8):1012-1015.
- [6] 李光辉,孙思胜,郭卫芸,等.2009—2015年全国食物中毒特征分析[J].食品工业,2017(6):205-207.
- [7] 王锐,高永军,丁凡,等.中国2004—2011年毒蕈中毒事件分析[J].中国公共卫生,2014,30(2):158-161.
- [8] 图力古尔,包海英,李玉.中国毒蘑菇名录[J].菌物学报,2014,33(3):517-548.
- [9] 赵玉莲,吴邦仁,刘昆,等.浙江省青褶伞属一个新记录种的鉴定[J].食药菌,2017(3):178-180.
- [10] 陈作红.2000年以来有毒蘑菇研究新进展[J].菌物学报,2014,33(3):493-516.

## 调查研究

# 2014—2016年湖南省毒蕈中毒的局部空间回归分析

梁进军<sup>1</sup>,史文佩<sup>2</sup>,段宏波<sup>1</sup>,赖天兵<sup>1</sup>,柳恒卓<sup>2</sup>

(1. 湖南省疾病预防控制中心,湖南长沙 410005; 2. 中南大学湘雅公共卫生学院,湖南长沙 410005)

**摘要:**目的 通过对湖南省毒蕈中毒的时空分析及影响因素研究,为毒蕈中毒的防控提供科学依据。方法 收集2014—2016年湖南省122个区(县)的毒蕈中毒监测数据,利用ArcGIS 10.2软件建立病例地理信息数据库,进行空间回归分析。结果 2014—2016年湖南省122个区(县)共报告毒蕈中毒4 081例,年均报告发病率为2.01/10万,病死率为0.61%(25/4 081),多数病例集中发生在6~9月。2014—2016年湖南省各区县毒蕈中毒发病存在空间聚集性,全局Moran's  $I$ 为0.327,  $P < 0.01$ 。毒蕈中毒发病情况与空间回归分析显示,毒蕈中毒发病情况与年平均温度、人均卫生机构数、中学生人数呈正相关,与中学教职工人数呈负相关。结论 湖南省是我国毒蕈中毒高发地区。湖南省毒蕈中毒发病存在空间聚集性,年平均温度、中学生人数、人均卫生机构数在空间层面对毒蕈中毒发病具有一定程度的正向影响作用。中学教职工人数对发病呈现负向影响作用。

**关键词:**毒蕈中毒;空间自相关;空间回归模型;食物中毒;食品安全;湖南

中图分类号:R155 文献标志码:A 文章编号:1004-8456(2018)05-0504-06

DOI:10.13590/j.cjfh.2018.05.012

## Local spatial regression analysis of mushroom poisoning in Hunan Province from 2014 to 2016

LIANG Jinjun<sup>1</sup>, SHI Wenpei<sup>2</sup>, DUAN Hongbo<sup>1</sup>, LAI Tianbing<sup>1</sup>, LIU Hengzhuo<sup>2</sup>

(1. Hunan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Hunan Changsha 410005, China;

2. Xiangya School of Public Health, Central South University, Hunan Changsha 410005, China)

**Abstract: Objective** To analyze the outbreaks of mycetism in Hunan Province from aspects including temporal-spatial distribution and risk factors, and to provide scientific basis for the control of mushroom poisoning. **Methods** Surveillance data was acquired on mushroom poisoning in 122 districts and counties in Hunan Province during 2014 and 2016. Software ArcGIS 10.2 was used to establish geographic information database of cases and spatial regression was conducted. **Results** 4 081 cases of mycetism was reported in the 122 districts and counties in Hunan during 2014 and 2016, the average annual incidence was 2.01/100 000, the average case fatality rate was 0.61% (25/4 081), and most of the cases occurred during June and September. Spatial aggregation of cases was detected with Moran's  $I = 0.327$ ,  $P < 0.01$ . Spatial regression showed that incidence of mushroom poisoning was in positive correlation with average annual temperature, number of health institutions per capita, number of secondary school students, and in negative correlation with number of faculty and staff in secondary schools. **Conclusion** Hunan was among the high mycetism prevalence areas in China. There was spatial aggregation of incidents. Incidence of mushroom poisoning was in positive correlation with average annual

收稿日期:2017-12-08

基金项目:湖南省卫生厅科研基金课题(B2015-135)

作者简介:梁进军 男 副主任技师 研究方向为食品安全风险监测 E-mail:45029523@qq.com